

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Tworzenie zwierząt transgenicznych poprzez transformację komórek rozrodczych in vivo wektorem transpozonowym, za pomocą dwóch różnych metod 1) elektroporacji lub 2) roztworu hipotonicznego.**
2. Czas trwania projektu: **5 lat.**
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **zwierzęta transgeniczne; wektor transpozonowy; komórki rozrodcze; synapsa; choroby neurologiczne.**
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): **A.**
 - A. Badania podstawowe
 - B. Badania translacyjne lub stosowane
 - C. Badania mające na celu zachowanie gatunku
 - D. Badania z zakresu medycyny sądowej
 - E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich
 - F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania
 - G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego
 - H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Za podstawowe czynności naszego organizmu takie jak uczenie się, oddychanie czy lokomocję odpowiedzialne są synapsy zarówno centralnego jak i obwodowego układu nerwowego. Nieprawidłowości w formowaniu, rozwoju oraz stabilizacji synaps mogą prowadzić do wielu schorzeń takich jak padaczka, choroba Alzheimera czy dystrofii mięśniowych. Celem badań naszej pracowni jest odkrycie nowych białek synaptycznych, które mogą mieć znaczący wpływ na rozwój i funkcję synaps zarówno w centralnym jak i obwodowym układzie nerwowym. W tym celu stworzyliśmy transgeniczne myszy umożliwiające nam zarówno globalną jak i tkankowo specyficzną delecję genów.

Aktualnie badane przez nas zwierzęta, zostały stworzone standardową metodą tworzenia linii transgenicznych, opierającą się na mikroiniekcji do przedjądrza (ang. pronuclear microinjection) wstawki genetycznej. Metoda ta posiada jednak wady takie jak losowa integracja wstawki do chromosomu gospodarza mogąca prowadzić do tzw. mozaiki czyli różnego stopnia ekspresji transgenu w komórkach, co może skutkować fałszywie pozytywnymi lub negatywnymi wynikami. W proponowanym wniosku chcemy stworzyć zwierzęta transgeniczne za pomocą alternatywnej metody polegającej na użyciu wektorów transpozonowych, które zostaną zintegrowane do komórek rozrodczych samców myszy przy użyciu dwóch różnych metod 1) elektroporacji lub 2) roztworu hipotonicznego. Celem tych doświadczeń jest uzyskanie stabilnego poziomu ekspresji transgenu we wszystkich komórkach, dzięki czemu wyniki badań będą bardziej dokładne i wiarygodne.

Proponowane badania mają charakter badań podstawowych oraz mogą przyczynić się do stworzenia lepszej linii transgenicznej, która będzie mogła być wykorzystana na skalę globalną i tym samym być użyteczna dla różnych dziedzin biologii i medycyny.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Planowane doświadczenia zakładają wykorzystanie **200** myszy.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

__EBSCO; __PUBMED; __Google Scholar; __AGRICOLA; __ScienceDirect; __Web of Science (JCR)

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Wykorzystałem słowa kluczowe:

Angiomotins / Yap / Sh3BP2 / ArhGef5 / Tks5 / Homer / neurons / muscles / synapses in the brain / neuromuscular junctions / mice / transgenesis /

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że dotychczas nie zostały przeprowadzone badania, które proponujemy w ramach zaplanowanego projektu badawczego.

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że badane przez nas białka mogą mieć istotny wpływ na prawidłowe funkcjonowanie i rozwój synaps nerwowo-nerwowych oraz synaps nerwowo-mięśniowych.

B. Brak jest danych dotyczących funkcji badanych białek oraz wpływu braku ich ekspresji na synapsy.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku funkcjonowania synaps w centralnym i obwodowym układzie nerwowym. Wykonanie zaplanowanego projektu badawczego może przyczynić się do poznania podłoża molekularnego wielu chorób neurologicznych czy dystrofii mięśniowych związanych z nieprawidłowym funkcjonowaniem synaps.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na identyfikacji nowych celów terapeutycznych wielu chorób o nieznanej dotychczas etiologii.

Zastąpienie: Jedną z metod za pomocą której można zastąpić wykorzystanie zwierząt kręgowych są badania in vitro na sztucznych liniach komórkowych, jednakże ten prosty model nie odzwierciedla w pełni procesów zachodzących na synapsach in vivo. Do proponowanych badań potrzebny jest organizm modelowy, który jak najwierniej odzwierciedla synapsy nerwowo-mięśniowe u człowieka. Najbardziej zbliżona zarówno morfologicznie jak i molekularnie do synaps człowieka jest synapsa nerwowomięśniowa u myszy, która znacząco różni się od tych u bezkręgowców.

Ograniczenie: Wielkość grup eksperymentalnych została ustalona w oparciu o wcześniejsze doświadczenie pracy z myszami oraz na podstawie wytycznych statystycznych. W naszych doświadczeniach planujemy wykorzystać jak najmniejszą liczbę zwierząt, jednakże wystarczającą aby uzyskać istotne statystycznie wyniki.

Udoskonalenie: W proponowanych doświadczeniach użyjemy procedur, czynności które zapewnią jak największy komfort i bezpieczeństwo zwierzęcia. Do klatek domowych zwierząt dodawane będą przedmioty wzbogacające środowisko, umożliwiające budowę gniazda i zabawę. Wszystkie doświadczenia będą przeprowadzone przez doświadczonych badaczy z jak największą dbałością o komfort zwierząt.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy ☐

TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

x NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.